

Kajian Agronomis dan Anatomis Hasil Sambung Dini Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Agronomical and Anatomical Study of Resulted Early Cocoa (Theobroma cacao L.) Grafting

A. Adi Prawoto¹⁾, Nurul Qomariyah²⁾, Sri Rahayu²⁾ dan Bambang Kusmanadhi³⁾

Ringkasan

Perbanyak bibit kakao secara okulasi dan sambung pucuk lazimnya dilakukan pada bibit umur 4–5 bulan sehingga perlu waktu 9–12 bulan untuk dapat dipindah ke kebun. Upaya memperpendek usia di pembibitan dengan tanpa mengurangi kualitas bibit, dapat ditempuh melalui klonalisasi lebih awal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh klon, aplikasi pupuk daun dan pengikatan bahan entres terhadap keberhasilan sambung kakao pada bibit umur satu bulan. Penelitian dilaksanakan di KP. Kaliwining, 45 m dpl, tipe iklim D (Schmidt & Ferguson) dengan rancangan acak kelompok faktorial. Perlakuan percobaan pertama faktorial 4 x 3 dan percobaan kedua faktorial 3 x 3 x 2 tiga ulangan. Faktor pertama percobaan pertama adalah klon, yaitu TSH 858, ICS 13, ICS 60 dan DR 2. Faktor kedua adalah pengikatan bahan entres sebelum digunakan, yaitu tanpa diikat, diikat 2 minggu, diikat 4 minggu. Faktor pertama percobaan kedua adalah klon, yaitu KW 162; KW 163 dan KW 165. Faktor kedua adalah pengikatan calon entres sebelum digunakan, yaitu tanpa diikat; diikat kawat 2 minggu; diikat kawat 4 minggu. Faktor ketiga adalah pemupukan calon entres, yaitu tanpa pupuk daun; dan dengan pupuk daun. Bibit batang bawah berupa semai ICS 60 umur 30 hari dan metode penyambungan adalah sambung pucuk di atas kotiledon. Variabel pengamatan meliputi persentase sambungan jadi, panjang tunas, diameter tunas, bobot basah dan bobot kering tunas, kandungan total C dan N bahan entres. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengikatan bahan entres tidak efektif untuk meningkatkan cadangan nutrisi sebab bahan entres secara periodik bertunas. Dampaknya bahwa pengaruhnya terhadap jumlah sambungan jadi serta pertumbuhan tunas baru, tidak nyata. Sampai umur satu bulan, jumlah sambungan jadi berkisar 90-100%, selanjutnya turun tajam sampai sekitar 30-60% tergantung pada klon yang digunakan. Jumlah sambungan jadi tertinggi dari percobaan pertama adalah DR 2 yaitu 62% dan dari percobaan kedua klon KW 162 dengan aplikasi pupuk daun yakni 39%. Kematian bibit sambungan dimulai dari daun dan hasil isolasi menunjukkan terserang penyakit *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora palmivora* serta *Colletotrichum gloeosporioides*. Dari kajian anatomi pertautan menunjukkan sambungan yang mati ditandai dengan pertautan yang lemah, tersusun oleh

1) Ahli Peneliti (*Senior Researcher*); Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. P.B. Sudirman 90, Jember 68118, Indonesia.

2) Mahasiswa Pascasarjana (*Student of Post Graduate*); Universitas Negeri Jember, Jember.

3) Dosen (*Lecture*); Universitas Negeri Jember; Jember.

sel-sel meristem dan menimbulkan rongga ketika disayat, sementara pertautan yang sehat ditandai dengan akumulasi senyawa lignin dan tidak pecah ketika dipotong. Disimpulkan bahwa tempat pembibitan yang terpisah dari pertanaman tua, media yang steril penyakit tular tanah, entres yang sehat, pengikatan sambungan yang erat serta pencegahan dari serangan penyakit merupakan kunci yang penting untuk keberhasilan sambung dini kakao.

Summary

*Cocoa grafting and budding is usually carried out on 4-5 month old seedling, thus it needs 9-12 months to be ready transplanted to the field. Effort to shorten time in the nursery can be done by early propagation. The aim of this research was to study effect of clones, tying and foliar application of graftsticks on the percentage of grafttake. This study was carried out in Kaliwining Experimental Station, 45 m a.s.l. and D climate type (Schmidt & Ferguson). First experiment was RCBD design and replicated 3 times, and factorial treatment 4 x 3. The first factor were clones, i.e. TSH 858, ICS 13, ICS 60 and DR 2, the second factor was graftstick wiring, i.e. without, wiring 2 and 4 weeks before using. The 2nd experiment using RCBD design replicated 3 times and factorial treatment 3 x 3 x 2. The first factor was clones, i.e. KW 162, KW 163 and KW 165; the second ones was wiring, i.e. without, wiring 2 and 4 weeks before using, and the 3rd factor was manuring, i.e. with and without foliar application. Root-stock was ICS 60 seedlings of 30 day old, and grafting method was cleft grafting above cotyledons. Variables observed include C and N total of the graftstick, percentage of grafttake, shoot length, diameter, wet and dry weight. The result showed that because the graftstick flush periodically, graftstick wiring was not effective to increase total nutrient (C and N) on the graftstick. Furthermore, their effect on the grafttake was not significant. Until 30 days first, percentage of grafttake was 90-100%, but then decreased sharply to 30-60% depend on the clones. From the first experiment, DR 2 showed the highest grafttake (62%), and KW 162 (39%) was the 2nd ones. Symptom on the death plants was started on the new leaves, that showed wilt, necrotic then fall. Isolation of those symptoms in the laboratory showed that *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora palmivora* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Anatomical analysis of the death graft union showed parenchymatous linked, weak and hollow when microtomed. Health union showed lignified accumulation that made tight union. It can be concluded that early cocoa grafting will success if the nursery is separated far from cocoa plantation, the medium is steril from soil borne disease, the graftstick is health, and tying of graft union must tight enough, then disease control must be done properly.*

Key Words : *Theobroma cacao*, clone, wiring, graft union, grafttake.

PENDAHULUAN

Produktivitas yang rendah merupakan permasalahan klasik yang dihadapi banyak pekebun kakao. Variabel tersebut merupakan resultan dari banyak faktor, salah satu di antaranya adalah kualitas bahan tanam yang kurang terpilih. Tanaman kakao bersifat heterozigot dan lazimnya menyerbuk silang sehingga keturunannya mengalami segregasi menghasilkan banyak individu yang keragamannya lebar dalam hal daya hasil, kualitas hasil, ketahanan terhadap hama, penyakit. Semuanya dapat berdampak pada penurunan produktivitas.

Pertanaman klonal telah diyakini lebih menjamin keseragaman genetis tanaman, sehingga berpotensi untuk mencapai produktivitas dan kualitas hasil yang tinggi. Di samping itu keunggulan berbagai sifat batang bawah yang ada dapat dimanfaatkan untuk berbagai tujuan, antara lain untuk menurunkan serangan penyakit (Biles *et al.*, 1989 dan Padgett & Morrison, 1990 *cit.* Fernandez-Garcia *et al.*, 2004) untuk meningkatkan toleransi terhadap kekeringan (White & Castillo *cit.* Fernandez-Garcia *et al.*, 2004) dan untuk memacu penyerapan nutrisi dari dalam tanah (Ruiz-Sifre *et al.*, 1997 *cit.* Fernandez-Garcia *et al.*, 2004). Tanaman melon (*Cucumis melo*) yang disambung pada batang bawah toleran kadar boron tanah tinggi, hasil buahnya kurang terpengaruh oleh akumulasi boron dalam daun karena batang bawah *Cucurbita* sp. mampu mencegah penyerapan boron hingga tinggal sekitar 59% dibandingkan melon yang tidak disambung (Edelstein *et al.*, 2005). Tanaman tomat yang disambung pada varietas Radja, Pera dan hibrida Volgogradskij Pera yang toleran salinitas

tinggi meningkatkan hasil buah batang atas 80%, karena batang bawah mampu mengatur penyerapan dan transpor ion garam ke batang atas (Estañ *et al.*, 2005). Penelitian pada tanaman jeruk (*Citrus sinensis*) yang disambung pada hibrida batang bawah kerdil (#23, dan F&A 418) menyebabkan ukuran tajuk batang atas hanya sebesar 75% dibandingkan yang disambung pada batang bawah yang normal. Akumulasi karbohidrat dalam buah dan akar serabut nyata lebih tinggi pada batang bawah kerdil. Diduga sebagai mekanismenya adalah pemacuan perkembangan organ reproduktif dan pertumbuhan buah sehingga menghambat pertumbuhan vegetatif (Lliso *et al.*, 2004). Pada tanaman kakao, batang bawah ICS 60 yang diketahui toleran tanah berat, dapat menyebabkan efisiensi hasil (*Yield efficiency*) tertinggi dibandingkan batang bawah ICS 1, ICS 45, dan ICS 95 (Eskes & Lachenaud, 2004).

Dalam proses penyambungan, regenerasi berkas pengangkut yang menghubungkan batang bawah dengan batang atas merupakan tahap yang kritis, melibatkan proses diferensiasi struktural dan fisiologis jaringan parenkim menjadi berkas xilem dan floem yang baru. Pertautan yang sehat ditandai dengan akumulasi lignin, senyawa yang lazim terdapat pada jaringan sklerenkim maupun unsur-unsur trakeal dan kribra jaringan pengangkut dan merupakan bagian penting dari berkas pengangkut tanaman (Fernandez-Garcia *et al.*, 2004).

Status hormon serta nutrisi bahan entres penting untuk keberhasilan perbanyakan secara klonal karena menjadi sumber energi untuk proses pembentukan pertautan dan pertumbuhan tunas baru (Ang Boon Beng,

1976; Njala *et al.*, 1972; Ramadan & Arasu, 1980). Peningkatan cadangan nutrisi tersebut antara lain dapat dipacu dengan mengikat ranting bahan entres dengan kawat (mirip *girdling*) sehingga asimilat diharapkan akan tertimbun di bagian atas ranting yang diikat. Penelitian setek tanaman *Eucalyptus globulus* Labill., menunjukkan persentase dan kecepatan berakar dipengaruhi oleh kandungan auksin, sementara jumlah akar, panjang akar terpengaruh nyata oleh nutrisi mineral bahan setek. Jumlah akar terpengaruh oleh Ca, N dan Zn, sedangkan panjang akar terpengaruh oleh konsentrasi P, Fe, Mn dan N (Schwambach *et al.*, 2005).

Perbanyakkan vegetatif kakao yang banyak dilakukan dengan cara sambung pucuk (*grafting*), dilakukan pada bibit umur 4-5 bulan dan dapat memperoleh sambungan jadi lebih dari 80%. Sementara itu keberhasilan sambung dini (dilakukan pada bibit umur 1-2 bulan), masih rendah. Sambung dini mempunyai nilai lebih, karena waktu pemeliharaan bibit di pembibitan dapat lebih singkat yakni 6-7 bulan sementara dengan sambungan bibit umur 4-5 bulan perlu waktu 9-12 bulan. Sambung pucuk fase dini pada kakao masih belum dilaksanakan secara komersial karena masih banyak kendala di antaranya adalah sifat tanaman kakao yang banyak mengeluarkan lendir terutama dari jaringan muda sehingga menyulitkan proses pengikatan pertautan yang erat (Prawoto, 1989). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengikatan dan pemupukan bahan entres serta klon terhadap keberhasilan sambung dini. Bahasan anatomis dan patogenesis, juga dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Kaliwining, 45 m dpl. tipe iklim D (Schmidt & Ferguson). Dilakukan dua seri penelitian sbb :

Percobaan I

Rancangan acak kelompok faktorial 4 x 3 ulangan tiga kali. Faktor pertama adalah klon batang atas, yaitu TSH 858, ICS 13, ICS 60 dan DR 2. Faktor kedua adalah pengikatan bahan entres, terdiri atas tanpa diikat kawat, diikat 2 minggu, diikat 4 minggu sebelum digunakan.

Percobaan II

Digunakan rancangan acak kelompok faktorial 3 x 3 x 2 ulangan tiga kali. Faktor pertama adalah klon entres, yaitu (A1) KW 163, (A2) KW 162, (A3) KW 165. Faktor kedua adalah pengikatan bahan entres, yaitu (B1) tanpa diikat, (B2) diikat kawat dua minggu dan (B3) empat minggu sebelum digunakan. Faktor ketiga adalah pemupukan bahan entres, yaitu (C0) tanpa pupuk daun, dan (C1) dengan pupuk daun.

Pupuk daun menggunakan konsentrasi 0,2%, interval aplikasi satu minggu. Sebagai batang bawah digunakan semai ICS 60 yang ditanam dalam polibeg 30 cm x 20 cm dengan medium campuran tanah lapis atas, pupuk kandang dan pasir 1 : 1 : 1 (v/v). Setelah bibit berumur satu bulan, dilakukan penyambungan dengan metode celah (*wedge method*) pada bagian epikotil tepat di atas kotiledon. Pada umur tersebut kotiledon masih menempel pada bibit sementara empat

daun pertama juga sudah mulai tumbuh. Entres yang digunakan masih berwarna hijau tetapi sudah mengayu, panjang sekitar 10 cm membawa 2-3 mata tunas, dipilih yang diameternya hampir sama dengan diameter batang bawah. Tali yang digunakan adalah plastik dan bibit sambungan disungkup massal menggunakan plastik transparan. Bedengan pembibitan dibuat di bawah penaung alami lamtoro serta atap daun nyiur setinggi 2 m dan meneruskan cahaya 30-50% terhadap penyinaran langsung. Variabel pengamatan meliputi kadar C dan N bahan entres yang diamati pada saat perlakuan penyambungan. Analisis dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanah Politeknik Pertanian Negeri Jember. Pengamatan persentase sambungan jadi dilakukan dua minggu setelah penyambungan, diulang setiap minggu. Sambungan dikatakan jadi apabila batang atas masih tampak segar dan sudah menumbuhkan tunas baru. Panjang tunas, diameter tunas serta bobot basah dan bobot kering tunas diamati pada umur 12 minggu. Pengamatan perkembangan pertautan secara anatomis, juga dilakukan. Pengamatan dilakukan dari pertautan umur 1 minggu, 3 minggu dan 12 minggu, dan preparat serta pengamatan anatomi pertautan dilakukan di Laboratorium Embriologi dan Mikroteknik Tumbuhan Fakultas Biologi UGM. Preparat dari pertautan yang menunjukkan gejala akan mati, juga diamati untuk mengetahui pola pertautannya. Selain itu bahasan patologi penyebab kematian bibit sambungan, juga dilakukan dan isolasi jaringan tanaman sakit dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia serta Laboratorium Perlindungan Tanaman Politeknik Pertanian Negeri Jember.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I

Pengaruh klon dan pengikatan bahan entres terhadap kandungan total karbon dan nitrogen tertera dalam Tabel 1. Interaksi pengaruh klon dengan pengikatan bahan entres tidak nyata. Tampak bahwa klon maupun pengikatan bahan entres tidak berpengaruh nyata terhadap akumulasi asimilat di dalam bahan entres yang diindikasikan dari kandungan bahan organik (karbon) serta senyawa nitrogen. Pengaruhnya terhadap sambungan jadi tertera dalam Tabel 2. Terhadap variabel ini, interaksi klon x pengikatan bahan entres juga tidak nyata.

Pengikatan bahan entres tidak berpengaruh terhadap hasil sambungan jadi dan pertumbuhan tunas baru, karena perlakuan pengikatan tidak mempengaruhi cadangan nutrisi dalam bahan entres

Tabel 1. Pengaruh klon dan pengikatan bahan entres terhadap kandungan total C dan N

Table 1. Clones and tying effect on total C and N

Perlakuan <i>Treatments</i>	C (%)	N (%)
TSH 858	43.38 a	1.06 a
ICS 13	46.15 a	0.96 a
ICS 60	44.39 a	1.03 a
DR 2	45.67 a	1.01 a
Tidak diikat (<i>Not tying</i>)	44.42 a	0.99 a
2 minggu (<i>Weeks</i>)	44.04 a	1.07 a
4 minggu (<i>Weeks</i>)	44.43 a	0.97 a

Catatan (*Notes*) : Data pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column followed by the same letter was not significantly different according to Tukey test at 5% level*).

Tabel 2. Pengaruh klon dan pengikatan bahan entres terhadap persentase sambungan jadi umur 2, 3, 8, 10 dan 12 minggu

Table 2. Effect of clone and tying on the percentage of graftake at 2, 3, 8, 10 and 12 weeks old

Perlakuan <i>Treatment</i>	2 minggu <i>Weeks</i>	3 minggu <i>Weeks</i>	8 minggu <i>Weeks</i>	10 minggu <i>Weeks</i>	12 minggu <i>Weeks</i>
TSH 858	98.89 a	98.89 a	50.00 a	41.11 a	38.89 a
ICS 13	100 a	98.89 a	60.00 a	52.22 ab	46.67 ab
ICS 60	100 a	97.78 a	71.11 b	55.56 ab	53.33 ab
DR 2	100 a	100 a	71.11 b	65.56 b	62.22 b
Tidak diikat (<i>Not tying</i>)	100 a	98.33 a	63.33 a	52.50 a	49.17 a
2 minggu (<i>Weeks</i>)	99.17 a	98.33 a	61.67 a	53.33 a	50.00 a
4 minggu (<i>Weeks</i>)	100 a	100 a	64.17 a	55.00 a	51.67 a

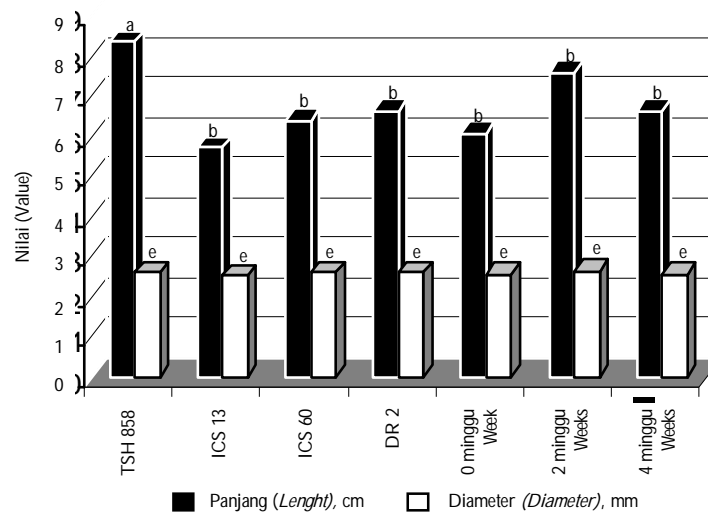
Catatan (*Notes*) : Data pada kolom yang sama untuk setiap faktor tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column of the same factor is not significantly different at 5% level according to Tukey test if followed by the same letter*).

(Tabel 1). Pengikatan dengan kawat yang diharapkan mampu menghambat transpor basipetal asimilat melalui floem, ternyata tidak mempengaruhi akumulasi cadangan nutrisi di bagian atas ikatan. Penyebabnya diduga kuat karena selama periode pengikatan tersebut cabang yang bersangkutan bertunas (*flush*), sehingga cadangan nutrisi yang ada digunakan untuk pertumbuhan tunas baru tersebut. Hasilnya kemungkinan dapat berbeda apabila selama pengikatan tersebut tunas-tunas baru yang tumbuh selalu dipotong. Hasil ini berbeda dengan pernyataan Badaru & Aikpokpodion (2001) bahwa pengeratan bahan entres walaupun dilakukan dua hari sebelum digunakan untuk okulasi, menyebabkan persentase okulasi jadi tertinggi dibandingkan perlakuan pemotongan tangkai daun, pengupiran daun, dan pemotongan tunas baru.

Faktor klon pada awalnya tidak berpengaruh terhadap jumlah sambungan jadi

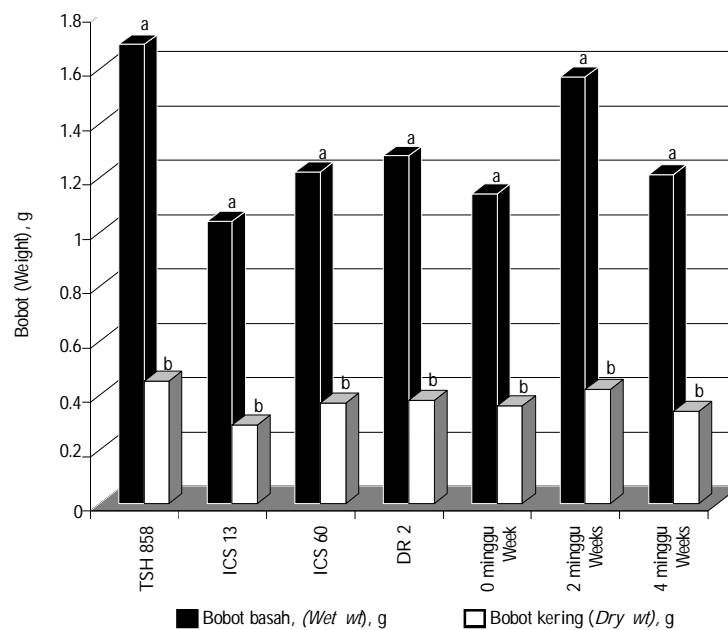
dan pertumbuhan tunas baru, tetapi setelah sambungan berumur dua bulan pengaruhnya mulai nyata. Tampak bahwa TSH 858 menghasilkan jumlah sambungan jadi paling sedikit, sebaliknya DR 2 paling banyak. Apabila dikaitkan dengan sifat kegigasan pertumbuhannya, hasil ini agak asing karena DR 2 termasuk klon kakao mulia yang pertumbuhannya relatif kurang gigas dibandingkan ketiga klon lainnya yang termasuk kakao lindak. Apabila dikaitkan dengan ketahanannya terhadap hama dan penyakit yang diduga sebagai salah satu penyebab kematian bibit sambungan, hasilnya juga tidak lazim karena DR 2 lebih rentan hama dan penyakit dibandingkan TSH 858, ICS 60 dan ICS 13.

Tampak bahwa terjadi penurunan yang besar jumlah sambungan jadi setelah sambungan berumur dua bulan. Bahasan anatomis dan patogenis penyebab kematian sambungan tersebut diuraikan lebih panjang lebar pada percobaan II.



Gambar 1. Pengaruh klon dan pengikatan bahan entres terhadap panjang dan diameter tunas pada umur 12 minggu.

Figure 1. Effect of clone and tying of budstick on the lenght and diameter of shoot at 12 week old.



Gambar 2. Pengaruh klon dan pengikatan bahan entres terhadap bobot basah dan bobot kering tunas pada umur 12 minggu.

Figure 2. Effect of clone and tying of budstick on the wet and dry weight of shoot at 12 weeks old.

Catatan (Notes) : Diagram yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, apabila diikuti huruf yang sama (Diagram followed by the same letter was not significantly differenty at 5% level according to Tukey test).

Percobaan II

Tabel 3, 4 dan 5 menunjukkan hasil sambungan jadi umur 3, 8, 10 dan 12 minggu, dari interaksi antarperlakuan yang berbeda nyata. Sementara itu interaksi ketiga faktor (klon x pengikatan x pemupukan), tidak nyata.

Secara umum tampak bahwa jumlah sambungan jadi tidak terpengaruh oleh klon entres, pengikatan dan pemupukan bahan entres. Sambungan jadi tertinggi sebesar 39,17% diperoleh dari klon KW 163 tanpa pengikatan, sementara sambungan jadi paling rendah sebesar 30,00% dari perlakuan KW 162 dengan pengikatan selama dua minggu.

Pengikatan bahan entres cenderung meningkatkan kandungan C total, meskipun

dengan pengikatan selama 4 minggu kandungan senyawa tersebut lebih rendah dibandingkan pengikatan selama dua minggu. Penyebab dari penurunan tersebut karena pada perlakuan pengikatan 4 minggu tanaman sudah bertunas (*flush*), kejadian mana mengakibatkan penggunaan cadangan nutrisi untuk pertumbuhannya. Daun-daun muda dari tunas kakao belum memiliki klorofil, karena klorofil baru terbentuk setelah tunas tersebut memiliki ukuran daun maksimum yaitu setelah berumur sekitar tiga minggu (Baker *et al.*, 1975). Hasil penelitian ini berbeda dengan yang terjadi pada tanaman kopi bahwa pengeratan cabang kopi dilaporkan meningkatkan kandungan fotoasimilat sehingga mampu mengurangi beban daun untuk berfotosintesis sekitar 30% sehingga dapat memperpanjang umur daun (Vaast *et al.*, 2005).

Tabel 3. Interaksi pengaruh klon x pengikatan bahan entres terhadap persentase sambungan jadi umur 2, 3, 8, 10 dan 12 minggu

Table 3. Interaction effect of clone x tying of graftsticks on the percentage of grafttake at the 2, 3, 8, 10 and 12 weeks old

Perlakuan Treatments	2 minggu Weeks	3 minggu Weeks	8 minggu Weeks	10 minggu Weeks	12 minggu Weeks
A1B1	100	93.33	60.00 a	39.17 a	39.17 a
A1B2	100	90.75	54.17 a	34.17 ab	34.17 ab
A1B3	100	90.83	54.17 ab	36.67 ab	36.67 ab
A2B1	100	90.00	51.67 b	35.00 ab	35.00 ab
A2B2	100	92.46	51.67 b	30.00 b	30.00 b
A2B3	100	95.79	54.17 ab	33.33 ab	33.33 ab
A3B1	100	92.50	55.83 ab	31.67 ab	31.67 ab
A3B2	100	93.33	53.33 b	34.17 ab	34.17 ab
A3B3	100	92.50	54.17 ab	32.50 ab	32.50 ab

Catatan (Notes) : A1: KW 163, A2 : KW 162, A3 : KW 165. B1: tanpa diikat (*no tying*), B2 : diikat kawat dua minggu (*2 weeks wiring*); B3 : diikat kawat empat minggu (*4 weeks wiring*).

Data pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column is not significantly different at 5% level according to Tukey test if followed by the same letter*).

Tabel 4. Interaksi pengaruh klon x pemupukan bahan entres terhadap persentase sambungan jadi umur 2, 3, 8, 10 dan 12 minggu

Table 4. Interaction effect of clone x manuring of graftsticks on the percentage of graftake at the 2, 3, 8, 10 and 12 weeks old

Perlakuan <i>Treatments</i>	2 minggu <i>Weeks</i>	3 minggu <i>Weeks</i>	8 minggu <i>Weeks</i>	10 minggu <i>Weeks</i>	12 minggu <i>Weeks</i>
A1C0	100	90.00	52.78 ab	36.11 a	36.11 a
A1C1	100	93.27	59.44 a	37.22 a	37.22 a
A2C0	100	91.64	48.33 b	31.11 b	30.00 b
A2C1	100	93.86	56.67 ab	32.78 ab	32.78 ab
A3C0	100	92.78	53.89 ab	32.22 ab	32.22 a
A3C1	100	92.78	55.00 ab	33.56 ab	33.33 ab

Catatan (Notes) : Keterangan A sama dengan Tabel 3 (*Information for A codes similar with Table 3*). C0 : tanpa pupuk daun (*without foliar fertilizer*); C1 : dengan pupuk daun (*with foliar fertilizer*).

Data pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column is not significantly different at 5% level according to Tukey test if followed by the same letter*).

Tabel 5. Interaksi pengaruh pengikatan x pemupukan bahan entres terhadap persentase sambungan jadi umur 2, 3, 8, 10 dan 12 minggu

Table 5. Interaction effect of tyingx manuring graftsticks materials on the percentage of graftake at the 2, 3, 8, 10 and 12 weeks old

Perlakuan <i>Treatments</i>	2 minggu <i>Weeks</i>	3 minggu <i>Weeks</i>	8 minggu <i>Weeks</i>	10 minggu <i>Weeks</i>	12 minggu <i>Weeks</i>
B1C0	100	91.00	53.33 ab	35.56	34.44
B1C1	100	92.22	58.33 ab	35.56	35.56
B2C0	100	91.22	53.33 ab	31.67	31.67
B2C1	100	91.58	52.78 ab	32.78	32.78
B3C0	100	89.97	48.33 b	31.11	31.11
B3C1	100	96.11	60.00 a	35.00	35.00

Catatan (Notes) : Keterangan perlakuan sama dengan Tabel 3 dan 4 (*Information for treatment codes similar with Table 3 and 4*).

Data pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column factor is not significantly different at 5% level according to Tukey test if followed by the same letter*).

Pemupukan bahan entres juga tidak menunjukkan perubahan total C dan N, diduga karena kandungan unsur hara dalam tanah telah cukup tinggi untuk menopang laju metabolisme yang optimum. Pemupukan tanaman sumber entres dilakukan dua kali setahun menggunakan urea, SP-36 dan KCI dengan dosis standar. Pupuk daun lazimnya hanya digunakan sebagai tambahan jika terjadi gejala defisiensi unsur hara tertentu. Oleh sebab itu dari penelitian ini juga dapat dinyatakan bahwa aplikasi pupuk daun dapat tidak efektif apabila aplikasi pupuk lewat tanah sudah dilakukan sesuai dengan rekomendasi.

Pertumbuhan tunas yang dinyatakan dalam bobot basah dan bobot kering

menunjukkan pengaruh interaksi klon x pengikatan bahan entres yang nyata (Tabel 7). Tampak bahwa KW 163 dengan pengikatan selama 4 minggu menunjukkan pertumbuhan tunas paling cepat, sebaliknya KW 165 dengan pengikatan selama 4 minggu paling lambat. Secara keseluruhan pertumbuhan tunas KW 165 paling lambat dan KW 163 paling cepat disusul KW 162. Perbedaan laju pertumbuhan antarklon tersebut adalah faktor bawaan (genetis) apalagi data tersebut hasil dari pengamatan di bedengan yang kondisi lingkungan eksternalnya homogen. Perbedaan antarklon kakao juga sudah banyak dilaporkan dari kemudahannya untuk disetek (menumbuhkan akar) yang ditengarai dengan perbedaan kandungan auksin, karbohidrat, senyawa

Tabel 6. Kadar total C dan N bahan entres

Table 6. Total C and N content in the graftwood

Pengikatan <i>Tying</i>	Klon <i>Clone</i>	Pupuk daun <i>Leaf manuring</i>	C (%)	N (%)
Tanpa (<i>No</i>)	KW 163	Tanpa (<i>No</i>)	40.11	0.93
		Pupuk (<i>Manure</i>)	41.99	0.85
	KW 162	Tanpa (<i>No</i>)	40.57	0.85
		Pupuk (<i>Manure</i>)	40.73	0.93
	KW 165	Tanpa (<i>No</i>)	48.29	0.85
		Pupuk (<i>Manure</i>)	38.68	0.85
Rerata (<i>Average</i>)			41.40	0.88
2-minggu (<i>Weeks</i>)	KW 163	Tanpa (<i>No</i>)	41.67	0.76
		Pupuk (<i>Manure</i>)	40.1	0.76
	KW 162	Tanpa (<i>No</i>)	40.89	0.76
		Pupuk (<i>Manure</i>)	43.72	0.76
	KW 165	Tanpa (<i>No</i>)	54.28	0.76
		Pupuk (<i>Manure</i>)	46.09	1.02
Rerata (<i>Average</i>)			44.46	0.80
4-minggu (<i>Weeks</i>)	KW 163	Tanpa (<i>No</i>)	41.36	0.68
		Pupuk (<i>Manure</i>)	44.67	0.93
	KW 162	Tanpa (<i>No</i>)	41.52	1.02
		Pupuk (<i>Manure</i>)	42.78	0.93
	KW 165	Tanpa (<i>No</i>)	44.04	1.1
		Pupuk (<i>Manure</i>)	40.25	0.85
Rerata (<i>Average</i>)			42.44	0.92

nitrogen, vitamin dan senyawa lainnya (Winarno, 2001).

Persentase sambungan jadi cenderung terus turun yakni dari sekitar 100% pada minggu kedua turun sampai 30-40% pada minggu ke-12. Walaupun demikian hasil tersebut jauh lebih tinggi dibanding yang pernah dilaporkan Villalobos & Aguilar (1991) yang menyatakan persentase hidup 17%. Kematian tertinggi dimulai dari minggu ke-8 hingga ke-12 yang ditandai dengan layu dan mengeringnya daun tunas baru dan menjalar ke bagian entres yang disambungkan kemudian ke batang bawah. Secara fisiologis diduga sebagai penyebabnya adalah masih terbatasnya kemampuan batang

bawah untuk menyediakan nutrisi bagi pembentukan pertautan dan pertumbuhan batang atas. Dalam penelitian ini batang bawah masih berumur satu bulan, kotiledon masih menempel, hipokotil masih berwarna hijau dan lentur dan empat helai daun pertama sudah terbentuk dan dalam penyambungan ini semuanya dipotong. Dalam kondisi seperti disebut, sistem perakaran tentunya belum berkembang cukup dan cadangan nutrisi lebih banyak tergantung dari satu pasang kotiledon yang ada. Pada umur 4 minggu tersebut panjang akar tunggang masih sekitar 16 cm sementara perkembangan akar serabut masih amat terbatas (van Himme *cit.* Wood & Lass, 1985).

Tabel 7. Interaksi pengaruh klon x pengikatan terhadap bobot basah dan bobot kering tunas umur 12 minggu

Table 7. Interaction effect of clone x tying on the shoot wet and dry weight at 12 week old

Perlakuan <i>Treatment</i>	Bobot basah, g <i>Wet wt., g</i>	Bobot kering, g <i>Dry wt., g</i>
A1B0	2.03 bc	0.55 b
A1B1	2.10 a	0.58 b
A1B2	3.81 a	1.25 a
A2B0	2.07 b	0.58 b
A2B2	1.80 c	0.53 b
A2B3	1.51 d	0.48 bc
A3B0	1.35 d	0.40 cd
A3B1	1.03 e	0.40 cd
A3B2	0.45 f	0.27 d

Catatan (*Notes*) : Keterangan kode perlakuan sama dengan Tabel 3 (*Information for treatment code similar with table 3*).

Data pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey apabila diikuti huruf yang sama (*Data in the same column factor is not significantly different at 5% level according to Tukey test if followed by the same letter*).

Pertumbuhan tunas baru tentunya bukanlah variabel keberhasilan sambungan yang baik karena untuk tumbuhnya tunas tersebut dapat bersumber dari cadangan nutrisi dalam entres dan belum tentu mencerminkan pertautan yang sudah berkembang sempurna sehingga aliran nutrisi dari batang bawah sudah lancar. Hasil pengamatan pada setek kakao memperkuat dugaan tersebut, bahwa setek dapat bertunas meskipun belum berakar tetapi dalam kasus seperti itu tumbuhnya tunas justru dapat berakibat kematian bahan setek jika tidak ditopang dengan akar yang sudah berkembang baik (Prawoto, 2004).

Dari aspek patogenis, hasil pengamatan isolasi jaringan sakit yang dilakukan di laboratorium menunjukkan gejala serangan jamur *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora palmivora* (Gambar 3 dan 4) yang oleh beberapa peneliti dinyatakan dapat menjadi penyakit penting di pembibitan kakao, jika medium yang digunakan sudah terinfeksi oleh spora patogen tersebut dan kondisi lingkungan mendukung untuk perkembangannya (Sri-Sukanto & Sulistyowati, 1986). Gejala visual serangan *P. palmivora* pada bibit kakao adalah pertumbuhan terhambat, menyerang daun muda dengan gejala layu seperti tersiram air panas, terkulai disertai gejala *blight* kekuningan dan nekrosis. Sementara itu *R. solani* lazimnya menyerang batang muda dengan gejala busuk berwarna hitam. Munculnya kedua patogen tersebut diduga karena lingkungan yang teduh, lembab dan kemungkinan terkontaminasi dari tanaman dewasa di sekitar pembibitan. *Rhizoctonia* sp. dan *Phytophthora* sp. merupakan patogen tular tanah dan faktor-faktor yang mempengaruhi

perkembangannya adalah aerasi tanah, kelembaban tanah, dan jenis tanah (Alexander, 1977).

Kajian Anatomis

Perkembangan anatomi pertautan (*graft union*) umur 1 dan 3 minggu tertera dalam Gambar 5 dan 6. Pada umur tersebut 90-100% sambungan masih menunjukkan gejala hidup sehat. Tampak bahwa pertautan sudah terbentuk, ditandai dengan akumulasi jaringan kalus dan masih tampak lapisan nekrosis berwarna hitam yang membatasi pertautan. Pada pertautan umur 1 minggu, jaringan kalus tampak masih tipis sementara pada umur 3 minggu jaringan tersebut sudah cukup tebal.

Dalam penyambungan selalu terbentuk lapisan sel nekrosis sebagai akibat proses



Gambar 3. Bibit sehat (kiri) dan sakit (tengah dan kanan).

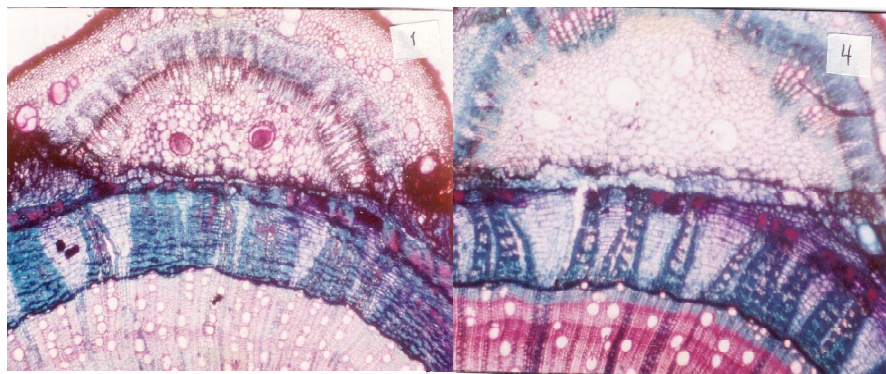
Figure 3. Health (left) and III seedling (centre and right).



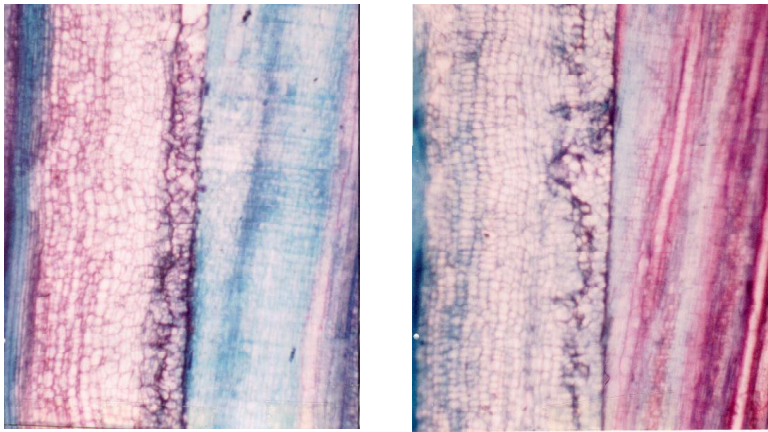
Gambar 4. Hasil isolasi penyebab kematian sambungan (kiri) dan miselia *R. solani* (kanan).
 Figure 4. Result of isolated pathogen cause of death union (left) and identified *R. solani* micelia (right).

pemotongan jaringan. Sel-sel tersebut lama kelamaan akan hilang karena dirombak dan diserap kembali oleh jaringan yang masih hidup. Beberapa tahap proses terbentuknya pertautan adalah diawali dengan pertumbuhan kalus, kohesi batang atas dengan batang bawah, pertumbuhan kambium serta pembentukan jaringan pengangkut baru yang menghubungkan kedua bagian batang yang disambungkan. Apabila semua proses tersebut berjalan

lancar, maka pertautan yang kuat akan terbentuk dan batang atas dapat tumbuh normal (Stoddart & McCully, 1980). Terbentuknya lapisan sel nekrosis merupakan akibat dari pelukaan dan tidak mempunyai hubungan dengan masalah keserasian (*compatibility*) dan ketidakserasian (*incompatibility*). Sel-sel parenkim yang tumbuh membentuk jaringan kalus sebagai respons terhadap luka potongan kelihatan jelas, demikian pula jaringan nekrosis yang



Gambar 5. Penampang lintang pertautan umur 1 minggu (kiri) dan 3 minggu (kanan).
 Figure 5. Transversal section of graft union at 1 (left) and 3 (right) week old.



Gambar 6. Penampang bujur pertautan umur 1 minggu (kiri) dan 3 minggu (kanan).

Figure 6. Longitudinal section of graft union at 1 (left) and 3 (right) weeks old.

ditandai dengan lapisan berwarna hitam, juga masih kelihatan. Jaringan tersebut merupakan sederetan sel yang rusak sebagai akibat dari proses pemotongan jaringan. Lapisan sel yang nekrosis dari pertautan umur satu minggu lebih jelas (banyak) daripada pertautan umur tiga minggu. Anatomi dan histokimiawi kalus yang tumbuh dari pertautan dan *in vitro Picea sitchensis* telah diamati dan tersusun oleh campuran pektin, karbohidrat, protein dan asam lemak (Miller & Barnett, 1993). Fungsi dari senyawa tersebut antara lain sebagai sumber nutrisi untuk perkembangan berkas pengangkut baru yang akan menghubungkan batang bawah dengan batang atas.

Banyak peneliti menyatakan bahwa pertautan dinyatakan berhasil dan lengkap apabila hubungan xilem dan floem lintas pertautan telah terbentuk. Diferensiasi parenkim kalus menjadi kambium dan

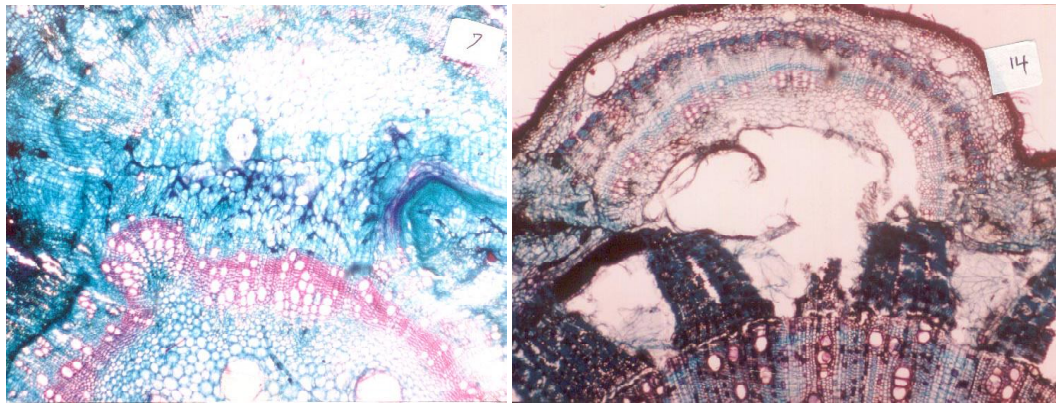
selanjutnya membentuk berkas pengangkut (xilem dan floem) baru yang menghubungkan batang bawah dengan batang atas, lazimnya dimulai pada hari keempat dan berkembang sempurna setelah 15 hari. Pada sambungan tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum*) kultivar Fanny pada batang bawah kultivar AR-9704 menunjukkan pembentukan xilem dan floem yang baru terjadi setelah 8 hari dan sudah berfungsi penuh mulai umur tersebut yang berkaitan dengan peningkatan aktivitas peroksidase dan katalase (Fernandez-Garcia et al., (2004). Di lain pihak Turquois & Malone (1996) menyatakan bahwa hubungan berkas pengangkut yang baru pada pertautan tanaman tomat dimulai 4-8 hari setelah penyambungan dan berfungsi sempurna setelah 15 hari. Stoddard & McCully (1980) menyatakan bahwa pada sambungan akar tanaman kacang-kacangan (*pea*), hubungan xilem dan floem sudah sempurna setelah

berlangsung 8 hari. Pada sambungan tanaman kakao dinyatakan 5 hari setelah perlakuan terjadi pembelahan sel-sel periklinal, umur satu minggu terbentuk kalus di daerah pertautan, umur 25 hari terbentuk berkas pengangkut yang baru di pertautan dan umur 40 hari terbentuk pertautan yang lengkap (Villalobos & Aguilar, 1991). Dari penelitian sambung dini kakao ini waktu terbentuknya kambium baru serta berkas xilem dan floem yang baru diduga juga berlangsung setelah umur 1-2 minggu karena pada umur tersebut sudah ditandai dengan terbentuknya kalus dan secara visual mata tunas sudah mulai membengkak. Pengamatan mikroskopis khususnya berkas floem cukup sulit karena perlu potongan bujur radial dan preparat yang lebih tipis. Pemotongan tidak dapat menggunakan mikrotom untuk menghindari terlepasnya bagian kulit dengan kayu.

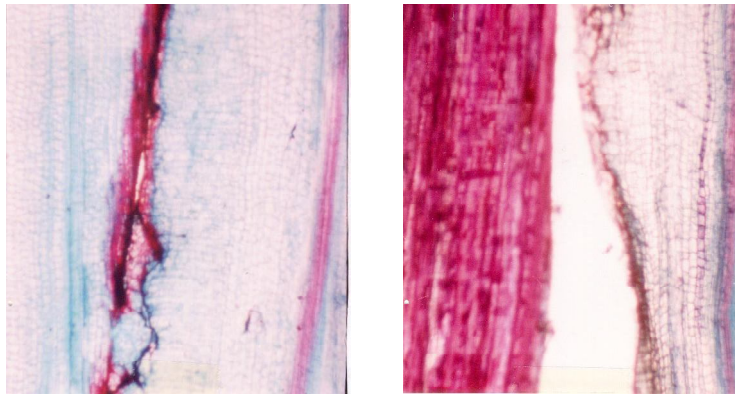
Akumulasi lignin merupakan salah satu indikasi terbentuknya pertautan yang baik. Selama berlangsung diferensiasi berkas

xilem, lignifikasi diperlukan untuk memperkuat jaringan xilem yang baru. Biosintesis lignin terjadi di dalam sel di daerah pertautan beberapa hari setelah penyambungan dan laju sintesis yang tinggi terjadi setelah 8 hari. Adanya akumulasi senyawa lignin tersebut dalam pewarnaan menggunakan safranin menghasilkan warna merah-oranye. Beberapa penelitian membuktikan bahwa enzim peroksidase berperan penting dalam biosintesis senyawa ini (Whetten *et al.*, 1998; Quiroga *et al.*, 2000).

Pengamatan anatomi pertautan sambungan yang hidup dan yang mati dilakukan pada umur 12 minggu, hasilnya tertera dalam Gambar 7 dan 8. Tampak bahwa pada sambungan yang jadi menunjukkan pertautan yang kuat ditandai dengan akumulasi lignin yang banyak (warna oranye) sementara pada sambungan yang gagal ditandai dengan struktur yang lemah (sel-sel parenkim) yang menciptakan rongga-rongga ketika dipotong menggunakan



Gambar 7. Penampang lintang pertautan sehat (kiri) dan gagal (kanan) umur 3-bulan.
 Figure 7. *Trasversal section of healt union (left) and die one (right) at 3 month old.*



Gambar 8. Penampang bujur pertautan sehat (kiri) dan layu (kanan) umur 3 bulan.

Figure 8. Longitudinal section of health graft union (left) and wilt (right) at 3 month old.

mikrotom. Akan tetapi kerusakan pertautan tersebut diduga bukan penyebab primer dari kematian sambungan, karena dalam penelitian ini sambungan dilakukan antarklon dalam satu spesies sehingga secara fisiologis pasti kompatibel (serasi). Secara umum, tanaman dari keluarga (famili) yang berbeda apabila saling disambungkan mutlak tidak serasi, tanaman dari marga yang berbeda juga tidak serasi kecuali pada jeruk. Sambungan antarklon atau varietas dari spesies yang sama hampir selalu serasi (Ochse *et al.*, 1966; Janick, 1972; Hartmann & Kester, 1983).

Jaringan kayu pertautan yang sehat dan serasi ditandai dengan terakumulasinya senyawa lignin (Gambar 5 dan 6 kiri). Apabila batang atas dengan batang bawah tidak serasi, maka kedua bagian yang disambungkan akan saling menolak yang ditandai dengan tidak terjadinya proses kohesi, jaringan pengangkut pada pertautan

tidak terbentuk, pembentukan kalus salah satu komponen batang berlebihan, xilem pada pertautan mengalami degenerasi membentuk massa bergetah. Kejadian tersebut memang tidak tampak dari penelitian ini, tetapi gejala lain misalnya pertautan masih dibatasi sel-sel parenkim yang menyebabkan ruang-ruang kosong pada pertautan, membuktikan perbedaan kecepatan antarklon dalam membentuk pertautan yang kuat. Menurut Mosse & Herrero (1951), kelainan-kelainan kecil seperti itu meskipun sering dianggap hal yang normal, tetapi perlu dipandang sebagai gejala ringan dari kekurangsempurnaan dalam pertautan. Gejala luar pertautan yang tidak serasi terkadang tidak berkaitan dengan modifikasi struktural atau degenerasi jaringan pengangkut yang menyebabkan pertautan tidak sempurna. Penelitian pada sambungan *Prunus persica*/*Prunus cerasifera* yang tidak serasi menunjukkan aktivitas kambium batang bawah berhenti lebih awal daripada batang

atas, jumlah unsur-unsur floem yang berdeferensiasi lebih sedikit meskipun produksi sel-sel parenkim tidak terpengaruh (Moing & Carde, 1988).

Kegagalan sambung dini kakao secara agronomis dapat disebabkan oleh pengikatan pertautan yang kurang erat sehingga proses pembentukan kambium baru tidak berlangsung sempurna. Phillips (1976) menyatakan bahwa keamatan kontak antarkambium bagian batang yang disambungkan amat menentukan keberhasilan penyambungan. Penyebab berikutnya dan ini yang paling mungkin adalah adanya serangan penyakit, mengingat lingkungan pesemaian yang cenderung lembab serta jaringan tanaman yang terlibat masih muda sehingga lebih peka terhadap gangguan patogen. Pertumbuhan awal tunas baru bukan satu-satunya indikasi sambungan yang berhasil, karena fenomena tersebut lebih diakibatkan oleh tersedianya cadangan nutrisi dalam bahan entres. Perbedaan kecepatan antarklon untuk tumbuh berkembang membentuk pertautan yang erat serta perbedaan ketahanannya terhadap hama dan penyakit, juga dapat menjadi penyebab kegagalan penyambungan jika bedengan pembibitan kurang steril. Oleh sebab itu pertautan yang tidak segera ditopang oleh terbentuknya berkas pengangkut yang baru yang menghubungkan batang bawah dengan batang atas, menyebabkan pertumbuhannya akan melemah dan mudah terserang penyakit. Kejadian ini serupa dengan yang terjadi pada setek kakao, bahwa tunas-tunas baru sering tumbuh meskipun setek belum berakar dan apabila akar tidak tumbuh pula maka akhirnya setek tersebut justru akan mati (Wijaya, 2004).

KESIMPULAN

1. Sambung dini kakao secara teknis layak dilakukan, sampai umur tiga minggu, jumlah sambungan jadi masih di atas 90% dan angkanya tidak terpengaruh oleh klon yang digunakan.
2. Setelah umur empat minggu, jumlah sambungan jadi dapat turun tajam, terutama disebabkan oleh serangan patogen *R. solani*, *P. palmivora* dan *C. gloeosporioides* serta pertautan yang kurang sempurna.
3. Pengikatan bahan entres kurang efektif meningkatkan cadangan nutrisi di dalamnya sehingga dampaknya terhadap jumlah sambungan jadi tidak jelas.
4. Untuk mencapai jumlah sambungan jadi yang tinggi, perlu diperhatikan sterilitas media perakaran serta lingkungan, pengikatan pertautan harus erat, serta perlindungan tanaman dari patogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Sdr. Herwanto, Wagiyo dan Surani selaku pelaksana penelitian, serta kepada Ir. Wowok Harkiyanto selaku Pengurus KP Kaliwining. Ucapan serupa disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini, baik langsung maupun tidak langsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. (1977). *Introduction of Soil Microbiology*. Willey Eastern Lim., New Delhi.

- Ang Boon Beng (1976). Cocoa rehabilitation techniques : preliminary Prang Besar Research Station investigation. p. 253–263. *Proc. Natn. Pl. Propagation Symposium*. Kuala Lumpur.
- Badaru, K. & P.O. Aikpokpodion (2001). Pre-budwood collection twig manipulation : A new procedure for increase budding success. *Ingenic Newsletter*, 6, 21–23.
- Baker, N.R.; K. Hardwick & P. Lones (1975). Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *New Phytol*, 75, 513–518.
- Edelstein, M.; Ben-Hur; R. Cohen; Y. Burger & I. Ravina (2005). Boron and salinity effects on grafted and non-grafted melon plants. *Plant and Soil*, 1–2, 273–284.
- Eskes, A.B. & P. Lachenaud (2004). A root-stock-scion experiment with cocoa re-analysed for yield efficiency. *Ingenic Newsletter* No. 9, 43–45.
- Estañ M.T.; M. M. Martinez-Rodriguez; F. Perez-Alfocea (2005). Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *J. Exp. Bot.*, 412, 703–712.
- Fernandez-Garcia, F.; M. Carvajal & E. Olmos (2004). Graft Union Formation in Tomato Plants: Peroxidase and Catalase Involvement. *Annals of Botany*, 93, 53–60.
- Hartmann, H.T. & D.E. Kester (1983). *Plant Propagation, Principles and Practices*. 4rd ed. Prentice-Hall Inc, New Jersey.
- Janick, J. (1972). *Horticulture Science*. Second Ed. W.H. Freeman & Co, San Francisco.
- Lliso, I.; J. B. Forner, & M. Talón (2004). The dwarfing mechanism of citrus rootstocks F&A 418 and #23 is related to competition between vegetative and reproductive growth. *Tree Physiology*, 24, 225–232.
- Miller, H. & J. R. Barnett (1993). The structure and composition of bead-like projections on sitka spruce callus cells formed during grafting and in culture. *Annals of Botany*, 72, 441–448
- Moing, A. & P. Carde (1988). Growth, cambial activity and phloem structure in compatible and incompatible peach/plum grafts. *Tree Physiology*, 4, 347–359.
- Mosse, B. & J. Herrero (1951). Studies on incompatibility between some pear and quince grafts. *J. Hort. Sci.*, 26, 238–245.
- Njala, Are L.A.; S. Leone & V.J. Jacobs (1972). Vegetative propagation in *Theobroma cacao* seasonal influence on budtake. p. 257–260. In: *IV int. Cocoa Res. Conference* St. Augustine, Trinidad.
- Ocshe, J.J.; M.J. Soule Jr.; M.J. Dijkmann & C. Wehlburg (1966). *Tropical and Subtropical Agriculture*. Vol. I. The McMillan Co., London.
- Philips, I.D.J. (1976). *The Cambium*. p. 347–390. In: M.M. Yeomann (Ed.). *Cell Division in Higher Plants*. Acad. Press, London.
- Prawoto, A.A. (1989). Penelitian sambungan kakao di pembibitan. *Pelita Perkebunan*, 5, 46–51.

- Prawoto, A.A. (2004). Pengaruh media penyetekan, klon, intensitas penyinaran serta konsentrasi zat pengatur tumbuh terhadap persentase setek kakao berakar. *Laporan Penelitian 2004, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*.
- Quiroga M.; C.Guerrero; M.A. Botella; A. Barcelo; I. Amaya; M.I. Medina; F.J. Alonso; S.M. deForchetti; H. Tigier & V. Valpuesta (2000). A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiology*, 122, 1119–1127.
- Ramadasan, K. & N.T. Arasu (1980). Vegetative propagation of *Theobroma cacao* Land related problems. *The Planter*, 56, 49–59.
- Schwambach, J.; C. Fadanelli & A.G. Fetti-Neto (2005). Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, 25, 487–494.
- Sri Sukanto & E. Sulistyowati (1986). Hama dan penyakit di pembibitan kakao. *Warta Puslit Kopi da Kakao Indonesia*, 3, 5–13.
- Stoddart, F.L. & McCully (1980). Effects of excision of stock and scion organs on the formation of the graft union in *Coleus* : a histochemical study. *Bot. Gaz.*, 141, 401–412.
- Turquois, N. & M. Malone (1996). Non-destructive assessment of developing hydraulic connections in the graft union of tomato. *Journal of Experimental Botany*, 47, 701–707.
- Vaast, P.; J. Angrand; N. Franck; J. Dauzat & M. Génard (2005). Fruit load and branch ring-barking affect carbon allocation and photosynthesis of leaf and fruit of *Coffea arabica* in the field. *Tree Physiology*, 25, 753–760.
- Villalobos, V.M. & M.E. Aguilar (1991). Plant production of cacao (*Theobroma cacao* L.) through micrografting of somatic embryos. p. 401–412. *In: Proc. Int. Cocoa Conference*. Malaysian Cocoa Board, Kuala Lumpur.
- Whetten R.W.; J.J. MacKay & R.R. Sederoff (1998). Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 585–609.
- Wijaya, I. (2004). *Pengaruh Intensitas Cahaya, Klon dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Keberhasilan Setek Kakao (Theobroma cacao L.)*. Tesis Pascasarjana, Universitas Negeri Jember.
- Winarno, H. (2001). Kemampuan berakar setek beberapa klon kakao dan responsnya terhadap perlakuan bahan pemacu perakaran. *Pelita Perkebunan*, 17, 55–63.
- Wood, G.A.R. & R.A. Lass (1985). *Cocoa*. 4th ed. Tropical Agric. Series. Longman, London.
